



700006967 | NCM1018A
700006968 | NCM1018B
700006969 | NCM1018C
700006970 | NCM1018D

Product Instructions

-  **(EN)** One Plate Total Viable Count (OP-TVC)
-  **(FR)** One Plate Numération viable totale (OP-TVC)
-  **(DE)** One Plate Gesamtkeimzahl (OP-TVC)
-  **(ES)** One Plate Recuento viable total (OP-TVC)
-  **(PT)** One Plate Contagem viável total (OP-TVC)
-  **(JA)** One Plate 総生菌数 (OP-TVC)
-  **(ZH)** One Plate 总活菌数 (OP-TVC)
-  **(KO)** One Plate 총 생균수 (OP-TVC)

Product Instructions

One Plate Total Viable Count (OP-TVC)

Intended Use

One Plate Total Viable Count (OP-TVC) offers a rapid method for the enumeration of total aerobic mesophiles using traditional culture methodology.

Product Summary and Explanation

Total Viable Count (TVC) is the test method for the enumeration of microorganisms that are able to grow and form colonies on/in a solid medium after aerobic incubation at 30 °C. The test is used to determine the microbial bioburden of a broad range of foods.

One Plate Total Viable Count consists of a nutrient agar base, which provides all the required carbon, nitrogen, and growth factors necessary to support the growth of all heterotrophic microorganisms. An additional diagnostic supplement is added post-sterilisation to indicate and colour colony-forming units, expressing metabolic activity. This colouration improves the ability to identify and enumerate colonies on or in the agar.

The product can permit a quantitative result for total viable count 36–48 hours for all food products, using only one plate versus two or more as described in ISO 7218, ISO 4833 (both parts).

Intended User

The method is designed for use by qualified personnel with appropriate training.

Product Codes

NOTE: Please refer to ISO 6887 parts 1–5 for suitable sample specific diluents.

Product Name	Format	Pack Size	SKU	
One Plate TVC	DCM	500 g	700006967	NCM1018A
		5 kg	700006968	NCM1018B
		10 kg	700006969	NCM1018C
		25 kg	700006970	NCM1018D
One Plate TVC Diagnostic Supplement	Liquid-Ready Supplement	1 x 100 mL bottle	700006971	NCM4094-200
One Plate TVC	Prepared Agar Plates*	20 x 90 mm Agar Plates	On Request	
		100 x 90 mm Agar Plates	On Request	
One Plate TVC	Ready to Re-melt Agar**	1 x 250 mL bottle	On Request	

*Prepared Agar Plates do not require supplementation.

**Ready to Re-melt Agar should be melted in a steaming water bath (refer to ISO 7218 for further guidance). Media should be supplemented after tempering.

Typical Composition

Formulation may be adjusted and/or supplemented as required to meet performance specifications.

Peptone	8.5 g/L
Growth Mix	4.65 g/L
Agar	10.0 g/L

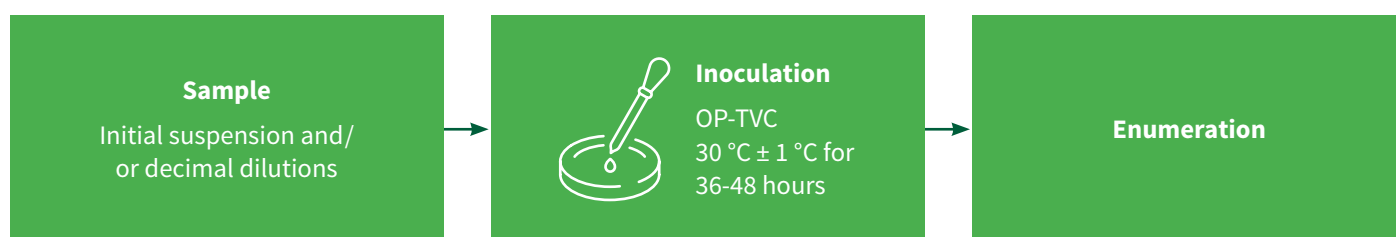
pH of the prepared media at 25 °C: pH 6.3 ± 0.1.

Preparation

Suspend 23.15 g of the medium in 1 litre of purified water. Agitate frequently to completely dissolve the medium. Autoclave at 121 °C for 15 minutes. Cool to 45–50 °C. Aseptically add 0.5 mL of the One Plate TVC diagnostic supplement (NCM4094-200), swirl to mix, and pour into Petri dishes.

NOTE: The One Plate TVC diagnostic supplement does not contribute any growth requirements. If the supplement is not added, colonies will present as their natural straw/buff colouration.

OP-TVC Flow Diagram



Sample Preparation

Follow the specifications of ISO 6887 or the specific international standard appropriate to the product concerned for the initial suspension and dilutions.

Surface Inoculation

1. Transfer 0.1 mL of the suspension, or any serial dilutions, onto the surface of **ONE** single plate of prepared or pre-poured OP-TVC agar plate.
2. Spread the inoculum on the surface with the aid of a sterile spreader.

NOTES: Automatic spiral plating deposition techniques can be used for surface inoculation. Decimal dilutions could be required if typical contamination range is unknown. To estimate small numbers, spread 1 mL of the primary dilution over the surface of 3 prepared plates as described in ISO 7218.

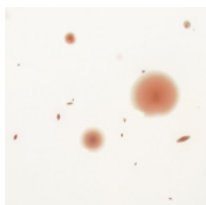
Pour Plate Inoculation

1. Transfer 1 mL of the sample if liquid, or 1 mL of the suspension in the case of other products, or any serial dilutions, into **ONE** empty, sterile Petri dish.
2. Pour approximately 15–20 mL of molten OP-TVC into the plate. Homogenize well by swirling, and let solidify on a cool surface.

NOTE: Overlays are not mandatory but can help prevent spreading growth on the surface of the agar. In this case, add 4-6 mL of molten agar on top of the set agar and allow to solidify before incubation as described in ISO 7218.

Incubation

Invert the prepared plate and incubate at 30 ± 1 °C for 36–48 hours.



Interpretation

Microbial growth will present as red/pink colonies against a clear background. Some microorganisms may present as weak or no reaction, but all colony-forming units should be interpreted as viable organisms regardless of colour.

Counting Colony-forming Units

Count all colonies regardless of colour, and take care to avoid mistaking particles of matrix debris for colonies. Examine doubtful objects carefully, using higher magnification where required.

Select the plate containing 10–300 colonies for accurate enumeration. Refer to the ISO 7218 when the results are outside the limits. Apply the dilution factors, which eliminates the need for two successive dilutions or duplicates.

Confirmation is not required for expression of the total viable count.

Dilute to Specifications Results

Dilutions are made according to the specification, and a calculated amount of the appropriate dilution is added to the plate.

Examples of specification dilutions:

Dilution	Inoculation	Specifications
1/10	1 mL pour plate	Negative result <10 CFU/mL Positive result ≥ 10 CFU/mL
1/10	0.1 mL surface or pour plate	Negative result <100 CFU/mL Positive result ≥ 100 CFU/mL
1/10	0.01 mL surface (loop) streak plate	Negative result <1000 CFU/mL Positive result ≥ 1000 CFU/mL
1/100	1 mL pour plate	Negative result <100 CFU/mL Positive result ≥ 100 CFU/mL
1/100	0.1 mL surface or pour plate	Negative result <1000 CFU/mL Positive result ≥ 1000 CFU/mL
1/1000	1 mL pour plate	Negative result <1000 CFU/mL Positive result ≥ 1000 CFU/mL

Quality Control

Appearance of dehydrated media: beige, homogeneous, free-flowing powder

Appearance of prepared media (after supplement addition): beige, clear to hazy

Typical cultural response when incubated aerobically at 30 ± 1°C and examined for growth at 48 hours:

Microorganism	WDCM	Approx. Inoculum (CFU)	Expected Results
<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i>	00003	50-200	>70 % Recovery, Red/Pink
<i>Escherichia coli</i>	00013	50-200	>70 % Recovery, Red/Pink
<i>Escherichia coli</i>	00012	50-200	>70 % Recovery, Red/Pink
<i>Staphylococcus aureus</i>	00034	50-200	>70 % Recovery, Red/Pink

Precautions and Limitations of the Method

1. Use good microbiology laboratory practices as per ISO 7218, except mandatory duplicate plating for enumeration, as the One Plate method requires only one Petri dish.
2. Some strains may present a weak or absent reaction from the diagnostic supplement. As all colonies are considered target and the supplement is intended to improve counting ability, all colonies should be counted regardless of colour.
3. Overlays are not mandatory (not performed during validation) but can be helpful to prevent spreading growth on the surface of the agar. In this case add 4-6 mL of molten agar on top of the set agar and allow to solidify before incubation as described in ISO 7218.
4. Colony counts in excess of 300 CFU per plate can lead to poorer definition of the diagnostic reactions; it is advised that a higher dilution be used to accurately enumerate higher levels of contamination.
5. Both the limit of detection and quantification are dictated by the subculture volume.
6. An inoculation of 1.0 mL (pour plate) of a 1/10 dilution has a limit of detection of 10 CFU/g and permits the user to quantify (enumerate) > 100 CFU/g.
7. If a plate count results in less than 10 colonies counted, an estimated number should be expressed, e.g., report >10 CFU/g or >100 CFU/g (depending on the inoculation volume).

Verification

Method verification should be done following the protocols described in ISO 16140:3:2021. The user laboratory should follow experimental design and acceptance criteria as described in chapter 6, 'Quantitative methods — Technical protocol for verification'.

Validations

MicroVal (ISO 16140-2:2016)

One Plate TVC has been certified by MicroVal as an alternative to the reference ISO 4833-1:2013 Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique, according to the reference standard ISO 16140-2:2016, with the scope of enumeration of microorganism in a broad range of foods. Refer to the MicroVal certificate for more information.

Safety

Refer to the relevant product safety data sheet (SDS).

Storage

Store dehydrated culture media at 2–30 °C away from direct sunlight. Once it is opened and recapped, place the container in a low-humidity environment at the same storage temperature. Protect from moisture and light by keeping container tightly closed.

Prepared media and/or supplements should be stored at 2–8 °C. Do not freeze. Supplement may be stored at room temperature for up to 5 days.

Expiration

Refer to expiration date stamped on the container. The dehydrated medium should be discarded if not free-flowing, or if appearance has changed from the original color. Expiry applies to medium in its intact container.

Disposal

Cultures should be disposed of appropriately as biohazard waste. The preferred method of treatment for biohazard waste is autoclaving. Items that cannot be autoclaved may be disinfected with bleach solution. Consult with the safety advisor for your

facility for detailed instructions.

Customer Service

Neogen Customer Services and Technical Services can be reached by using the following contact information:

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Scotland UK

+44 (0) 1292 525600

infoUK@neogen.com

Training on this product, and all Neogen test kits, is available.

Terms and Conditions

For full terms and conditions, please visit <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

Warranty

Neogen Corporation makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, Neogen will provide a replacement of the product. Buyer assumes all risk and liability resulting from the use of this product. There is no warranty of merchantability of this product or of the fitness of the product for any purpose. Neogen shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.



Instructions sur les produits

One Numération viable totale (OP-TVC)

Utilisation prévue

One Plate Numération viable totale (OP-TVC) est une méthode rapide pour le dénombrement des mésophiles aérobies totaux selon une méthodologie de culture conventionnelle.

Résumé et explication du produit

La numération viable totale (TVC) est la méthode test pour le dénombrement des micro-organismes capables de croître et de former des colonies sur/dans un milieu solide après une incubation aérobie à 30 °C. Le test est utilisé pour déterminer la charge microbienne d'un vaste éventail d'aliments.

One Plate Numération viable totale se compose d'une base de gélose nutritive, qui fournit tous les carbones, l'azote et les facteurs de croissance nécessaires pour soutenir la croissance de tous les micro-organismes hétérotrophes. Un supplément pour diagnostique est ajouté après la stérilisation pour identifier et colorer les unités formant colonies, exprimant l'activité métabolique. Cette coloration facilite l'identification et le dénombrement des colonies sur ou dans la gélose.

Le produit permet d'obtenir un résultat quantitatif pour la numération viable totale après 36-48 heures pour tous les produits alimentaires, avec une seule plaque plutôt que deux ou plus, conformément aux normes ISO 7218 et ISO 4833 (les deux parties).

Utilisateurs visés

La méthode est conçue pour être utilisée par du personnel qualifié et formé de manière appropriée.

Codes produit

REMARQUE : se reporter aux parties 1 à 5 de la norme ISO 6887 pour connaître les diluants spécifiques aux échantillons appropriés.

Nom du produit	Format	Taille de l'emballage	UGS	
One Plate TVC	DCM	500 g	700006967	NCM1018A
		5 kg	700006968	NCM1018B
		10 kg	700006969	NCM1018C
		25 kg	700006970	NCM1018D
Supplément pour diagnostic One Plate Numération viable totale	Supplément prêt à l'emploi	1 flacon de 100 mL	700006971	NCM4094-200
One Plate TVC	Plaques de gélose préparées*	Plaques de gélose de 20 x 90 mm	Sur demande	
		Plaques de gélose de 100 x 90 mm	Sur demande	
One Plate TVC	Gélose prête à refondre**	1 flacon de 250 mL	Sur demande	

*Les plaques de gélose préparées ne nécessitent pas de supplémentation.

**La gélose prête à refondre doit être fondue dans un bain-marie à vapeur (se reporter à la norme ISO 7218 pour plus d'informations). Il convient de supplémenter le milieu après la trempe.

Composition typique

La formulation peut être ajustée et/ou complétée au besoin pour répondre aux caractéristiques de performance.

Peptone	8,5 g/L
Mélange de croissance	4,65 g/L
Gélose	10,0 g/L

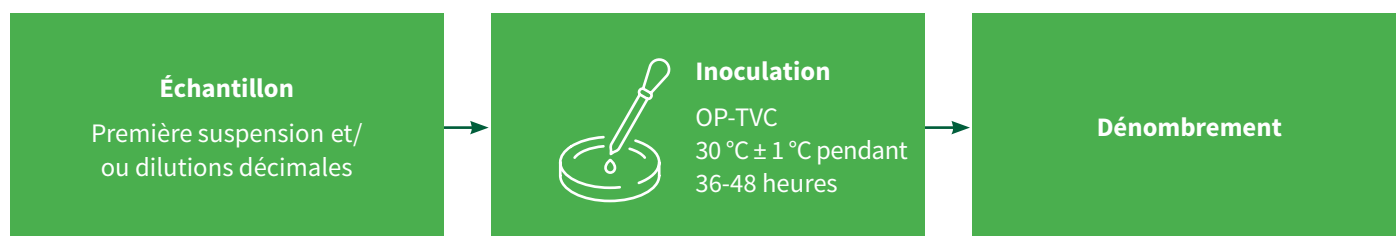
pH du milieu préparé à 25 °C : pH 6,3 ± 0,1.

Préparation

Mettre en suspension 23,15 g de milieu dans 1 litre d'eau purifiée. Agiter fréquemment pour dissoudre complètement le milieu. Stériliser en autoclave à 121 °C pendant 15 minutes. Laisser refroidir à 45–50 °C. Ajouter dans des conditions d'asepsie 0,5 ml du One Plate TVC Supplément pour diagnostic (NCM4094-200) (NCM4088-200), agiter pour mélanger et verser dans des boîtes de Petri.

REMARQUE : le One Plate Supplément pour diagnostic TVC ne contribue pas aux exigences de croissance. En l'absence de supplément, les colonies se présentent dans leur coloration naturelle paille/chamois.

Diagramme du flux OP-TVC



Préparation d'échantillon

Respecter les indications de la norme ISO 6887 ou de la norme internationale spécifique au produit concerné pour la première suspension et les dilutions.

Inoculation en surface

1. Transférer 0,1 ml de la suspension ou de toute dilution séquentielle sur la surface d'**UNE** plaque de gélose OP-TVC préparée ou coulée à l'avance.
2. Répartir l'inoculum sur la surface à l'aide d'un épandeur stérile.

REMARQUES : des techniques de dépôt automatique en spirale peuvent être utilisées pour l'inoculation en surface. Des dilutions décimales pourraient être nécessaires si la plage de contamination typique est inconnue. Pour estimer de petits nombres, étaler 1 mL de la dilution primaire sur la surface de 3 plaques préparées conformément à la norme ISO 7218.

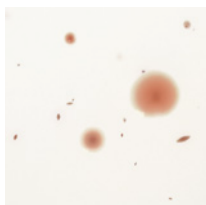
Inoculation de la plaque de coulée

1. Transférer 1 ml de l'échantillon s'il est liquide, ou 1 ml de la suspension dans le cas d'autres produits, ou toute dilution séquentielle, dans **UNE** boîte de Pétri vide et stérile.
2. Verser environ 15 à 20 ml d'OP-TVC fondu dans la plaque. Bien homogénéiser en agitant et laisser solidifier sur une surface froide.

REMARQUE : les recouvrements ne sont pas obligatoires, mais peuvent contribuer à empêcher la propagation de la croissance à la surface de la gélose. Dans ce cas, ajouter 4 à 6 mL de gélose fondue sur la gélose durcie et laisser se solidifier avant l'incubation conformément à la norme ISO 7218.

Incubation

Retourner la plaque préparée et incuber à 30 ± 1 °C pendant 36 à 48 heures.



Interprétation

La croissance microbienne se présentera sous forme de colonies rouges/roses sur un fond clair. Certains micro-organismes peuvent présenter une réaction faible ou inexistante, mais toutes les unités formant colonie doivent être interprétées comme des organismes viables, quelle que soit leur couleur.

Dénombrement des unités formant des colonies

Dénombrer toutes les colonies, quelle que soit leur couleur, et veiller à ne pas confondre les particules de débris de la matrice avec les colonies. Examiner attentivement les objets douteux en utilisant un grossissement plus élevé si nécessaire.

Sélectionner la plaque contenant 10 à 300 colonies pour un dénombrement précis. Se reporter à la norme ISO 7218 si les résultats sortent des limites. Appliquer les facteurs de dilution afin de ne pas avoir à procéder à deux dilutions successives ou à des doublons.

Il n'est pas nécessaire de confirmer l'expression de la numération viable totale.

Diluer selon les spécifications Résultats

Les dilutions sont effectuées conformément aux spécifications et une quantité calculée de la dilution appropriée est ajoutée à la plaque.

Exemples de dilutions selon spécification :

Dilution	Inoculation	Caractéristiques
1/10	1 ml de plaque de coulée	Résultat négatif < 10 CFU/mL Résultat positif ≥ 10 UFC/mL
1/10	0,1 ml de surface ou de plaque de coulée	Résultat négatif < 100 CFU/mL Résultat positif ≥ 100 UFC/mL
1/10	Plaque de stries de surface (boucle) de 0,01 mL	Résultat négatif < 1000 CFU/mL Résultat positif ≥ 1000 UFC/mL
1/100	1 ml de plaque de coulée	Résultat négatif < 100 CFU/mL Résultat positif ≥ 100 UFC/mL
1/100	0,1 ml de surface ou de plaque de coulée	Résultat négatif < 1000 CFU/mL Résultat positif ≥ 1000 UFC/mL
1/1000	1 ml de plaque de coulée	Résultat négatif < 1000 CFU/mL Résultat positif ≥ 1000 UFC/mL

Contrôle qualité

Aspect du milieu déshydraté : poudre beige, homogène et fluide

Aspect du milieu préparé (après ajout du supplément) : beige, transparent à légèrement trouble

Réponse culturale typique lors de l'incubation aérobie à 30 ± 1 °C et de l'examen de la croissance à 48 heures :

Micro-organisme	WDCM	Inoculum approximatif (UFC)	Résultats attendus
<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i>	00003	50-200	> 70 % de récupération, rouge/rose
<i>Escherichia coli</i>	00013	50-200	> 70 % de récupération, rouge/rose
<i>Escherichia coli</i>	00012	50-200	> 70 % de récupération, rouge/rose
<i>Staphylococcus aureus</i>	00034	50-200	> 70 % de récupération, rouge/rose

Précautions et limites de la méthode

1. Utiliser les bonnes pratiques de laboratoire de microbiologie conformément à la norme ISO 7218, à l'exception du placage en double obligatoire pour le dénombrement, car la méthode à une seule plaque ne nécessite qu'une seule boîte de Pétri.
2. Certaines souches peuvent présenter une réaction faible ou absente du supplément diagnostique. Étant donné que toutes les colonies sont considérées comme cibles et que le supplément vise à améliorer la capacité de comptage, toutes les colonies doivent être dénombrées, quelle que soit leur couleur.
3. Les recouvrements ne sont pas obligatoires, mais peuvent contribuer à empêcher la propagation à la surface.
4. Un nombre de colonies supérieur à 300 UFC par plaque peut conduire à une mauvaise définition des réactions diagnostiques ; il est conseillé d'utiliser une dilution plus élevée pour dénombrer avec précision les niveaux de contamination plus élevés.
5. La limite de détection et la quantification sont déterminées par le volume de la sous-culture.
6. Une inoculation de 1,0 mL (plaque de coulée) d'une dilution de 1/10 a une limite de détection de 10 UFC/g et permet à l'utilisateur de quantifier (dénombrer) > 100 UFC/g.
7. Si le dénombrement sur plaque donne lieu à moins de 10 colonies, il faut exprimer une estimation du nombre, p. ex., indiquer >10 UFC/g ou >100 UFC/g (selon le volume d'inoculation).

Vérification

La vérification de la méthode doit être effectuée selon les protocoles décrits dans la norme ISO 16140:3:2021. Le laboratoire utilisateur doit suivre les critères de conception expérimentale et d'acceptation décrits au chapitre 5, « Méthodes quantitatives — Protocole technique de vérification ».

Validations

MicroVal (ISO 16140-2:2016)

One Plate TVC a été certifié par MicroVal comme alternative à la méthode horizontale de référence ISO 4833-1:2013 pour le dénombrement des micro-organismes — Partie 1 : Dénombrement des colonies à 30 °C par la technique de la plaque de coulée, selon la norme de référence ISO 16140-2:2016, avec l'étendue du dénombrement des micro-organismes dans une large gamme d'aliments. Se reporter au certificat MicroVal pour plus d'informations.

Sécurité

Se reporter à la fiche de données de sécurité (FDS) du produit concerné.

Stockage

Conserver les milieux de culture déshydratés à une température comprise entre 2 et 30 °C, à l'abri de la lumière directe du soleil. Une fois qu'il est ouvert et rebouché, placer le récipient dans un environnement à faible humidité à la même température de stockage. Protéger contre l'humidité et la lumière en gardant le récipient hermétiquement fermé.

Les milieux préparés et/ou les suppléments doivent être conservés à une température de 2 à 8 °C. Ne le congeler pas. Le supplément peut être conservé à température ambiante jusqu'à 5 jours.

Expiration

Se reporter à la date de péremption indiquée sur le contenant. Le milieu déshydraté doit être éliminé s'il ne s'écoule pas librement ou si l'aspect a changé par rapport à la couleur d'origine. La date de péremption s'applique au milieu dans son contenant intact.

Mise au rebut

Les cultures doivent être éliminées selon la réglementation en tant que déchets à risque biologique. La méthode privilégiée de traitement des déchets à risque biologique est l'autoclavage. Les composants qui ne peuvent pas être autoclavés peuvent être désinfectés avec une solution d'eau de Javel. S'adresser au conseiller en sécurité de votre établissement pour obtenir des consignes détaillées.

Service clientèle

Les services à la clientèle et les services techniques de Neogen sont joignables aux coordonnées suivantes :

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Écosse Royaume-Uni

+44 (0) 1292 525600

infoUK@neogen.com

Une formation sur ce produit, ainsi que sur tous les kits de test Neogen, est disponible.

Conditions générales

Pour connaître l'ensemble des conditions générales, veuillez consulter la page <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>.

Garantie

Neogen Corporation n'offre aucune garantie d'aucune sorte, expresse ou implicite, sauf que les matériaux à partir desquels ses produits sont fabriqués sont de qualité standard. Si des matériaux sont défectueux, Neogen fournira un remplacement du produit. L'acheteur assume tous les risques et responsabilités résultant de l'utilisation de ce produit. Il n'existe aucune garantie de qualité marchande de ce produit ou de l'adéquation du produit à un usage quelconque. Neogen ne peut être tenu responsable de tout dommage, y compris les dommages spéciaux ou consécutifs, ou des dépenses découlant directement ou indirectement de l'utilisation de ce produit.



Produktanweisungen

One Plate Gesamtkeimzahl (OP-TVC)

Verwendungszweck

One Plate Gesamtkeimzahl (OP-TVC) bietet eine schnelle Methode zur Auszählung der gesamten aeroben Mesophilen unter Verwendung traditioneller Kulturmethodik.

Produktzusammenfassung und Erklärung

Gesamtkeimzahl (TVC) ist die Testmethode zur Auszählung von Mikroorganismen, die nach aerober Inkubation bei 30 °C auf/ in einem festen Medium wachsen und Kolonien bilden können. Der Test wird verwendet, um die mikrobielle Keimbelastung einer Vielzahl von Lebensmitteln zu bestimmen.

One Plate Gesamtkeimzahl besteht aus einer Nähragarbasis, die alle erforderlichen Kohlenstoff-, Stickstoff- und Wachstumsfaktoren liefert, die zur Förderung des Wachstums aller heterotrophen Mikroorganismen erforderlich sind. Ein zusätzliches diagnostisches Supplement wird nach der Sterilisation hinzugegeben, um koloniebildende Einheiten anzuzeigen und zu färben, die die Stoffwechselaktivität ausdrücken. Diese Färbung verbessert die Fähigkeit, Kolonien auf oder im Agar zu identifizieren und zu zählen.

Das Produkt ermöglicht ein quantitatives Ergebnis für die Gesamtkeimzahl nach 36–48 Stunden für alle Lebensmittelprodukte, wobei nur eine Platte verwendet wird und nicht zwei oder mehr, wie in ISO 7218 und ISO 4833 (beide Teile) beschrieben

Vorgesehene Anwender

Die Methode ist für die Anwendung durch qualifiziertes Personal mit entsprechender Ausbildung konzipiert.

Produktcodes

HINWEIS: Bitte beachten Sie ISO 6887 Teile 1–5 für geeignete probenspezifische Verdünnungsmittel.

Produktname	Format	Packungsgröße	SKU	
One Plate TVC	Trockennährmedien (DCM)	500 g	700006967	NCM1018A
		5 kg	700006968	NCM1018B
		10 kg	700006969	NCM1018C
		25 kg	700006970	NCM1018D
Diagnostisches One Plate TVC Supplement	Verflüssigtes Supplement	1 x 100-ml-Flasche	700006971	NCM4094-200
One Plate TVC	Vorbereitete Agar-Platten*	20 x 90-mm-Agarplatten	Auf Anfrage	
		100 x 90-mm-Agarplatten	Auf Anfrage	
One Plate TVC	Wiederaufschmelzbarer Agar**	1 x 250-ml-Flasche	Auf Anfrage	

* Vorbereitete Agarplatten erfordern keine Supplementierung.

** Wiederaufschmelzbarer Agar sollte in einem dampfenden Wasserbad geschmolzen werden (siehe ISO 7218 für weitere Anleitungen). Medien sollten nach der Temperierung supplementiert werden.

Typische Zusammensetzung

Die Formulierung kann bei Bedarf angepasst und/oder ergänzt werden, um die Leistungsspezifikationen zu erfüllen.

Pepton	8,5 g/l
Wachstumsfördernde Mischung	4,65 g/l
Agar	10,0 g/l

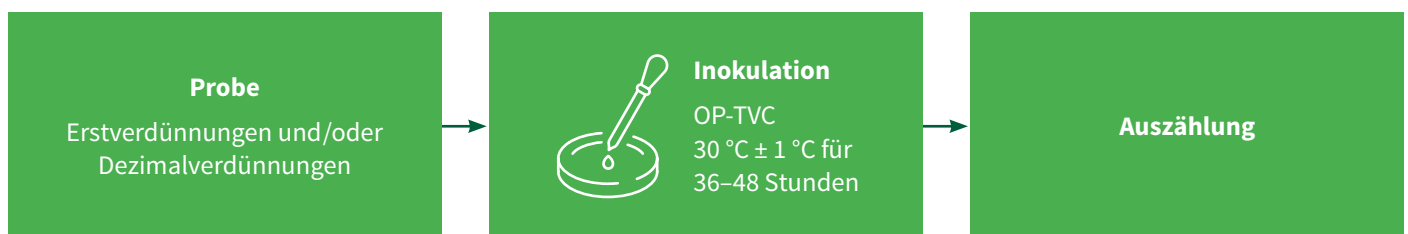
pH-Wert des vorbereiteten Mediums bei 25 °C: pH 6,3 ± 0,1.

Vorbereitung

23,15 g des Mediums in 1 Liter gereinigtem Wasser suspendieren. Häufig rühren, um das Medium vollständig aufzulösen. 15 Minuten bei 121 °C autoklavieren. Auf 45–50 °C abkühlen lassen. Aseptisch 0,5 ml des diagnostischen One Plate TVC Supplements (NCM4094-200) hinzugeben, es zum Mischen schwenken und in Petrischalen gießen.

HINWEIS: Das One Plate TVC Diagnose-Supplement stellt keine weiteren Wachstumsanforderungen. Wird das Supplement nicht hinzugegeben, zeigen die Kolonien ihre natürliche Stroh-/Braun-Färbung.

OP-TVC Flussdiagramm



Probenvorbereitung

Für Erstverdünnungen und weitere Verdünnungen die Spezifikationen von ISO 6887 oder der spezifischen, für das betreffende Produkt geeigneten internationalen Norm befolgen.

Oberflächen-Inokulation

- 0,1 ml der Suspension oder serielle Verdünnungen auf die Oberfläche einer einzelnen vorbereiteter oder vorgegossener **ONE** Plate OP-TVC-Agarplatte überführen.
- Das Inokulum mit Hilfe eines sterilen Spatels auf der Oberfläche verteilen.

HINWEISE: Für die Oberflächeninokulation können automatische Spiralbeschichtungstechniken verwendet werden. Dezimalverdünnungen können erforderlich sein, wenn der typische Kontaminationsbereich unbekannt ist. Um kleine Zahlen abzuschätzen, 1 ml der primären Verdünnung auf der Oberfläche von 3 vorbereiteten Platten verteilen, wie in ISO 7218 beschrieben.

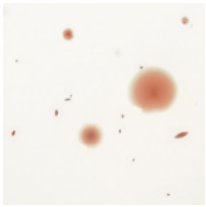
Gießplatten-Inokulation

- 1 ml der Probe, wenn diese flüssig ist, oder 1 ml der Suspension im Falle anderer Produkte oder etwaige serielle Verdünnungen in **EINE** leere, sterile Petrischale überführen.
- Ca. 15–20 ml geschmolzenes OP-TVC in die Platte gießen. Durch Schwenken gut homogenisieren und auf einer kühlen Oberfläche fest werden lassen.

HINWEIS: Overlays sind nicht zwingend erforderlich, können aber dazu beitragen, die Wachstumsausbreitung auf der Agaroberfläche zu verhindern. In diesem Fall 4–6 ml geschmolzener Agar oben auf den festen Agar gegeben und vor der Inkubation erstarren lassen, wie in ISO 7218 beschrieben.

Inkubation

Die vorbereitete Platte umdrehen und 36–48 Stunden bei 30 ± 1 °C inkubieren.



Interpretation

Das mikrobielle Wachstum zeigt sich als rote/rosafarbene Kolonien auf durchsichtigem Hintergrund. Einige Mikroorganismen können eine schwache oder keine Reaktion zeigen, aber alle koloniebildenden Einheiten sollten unabhängig von ihrer Farbe als lebensfähige Organismen interpretiert werden.

Zählung koloniebildender Einheiten

Zählen Sie alle Kolonien, unabhängig von ihrer Farbe, und achten Sie darauf, Partikel von Matrixresten nicht mit Kolonien zu verwechseln. Zweifelhafte Objekte sorgfältig untersuchen, ggf. mit höherer Vergrößerung.

Wählen Sie eine Platte mit 10–300 Kolonien für eine genaue Auszählung. Beziehen Sie sich auf ISO 7218, wenn die Ergebnisse außerhalb der Grenzwerte liegen. Wenden Sie die Verdünnungsfaktoren an, wodurch die Notwendigkeit von zwei aufeinanderfolgenden Verdünnungen oder Duplikaten entfällt.

Eine Bestätigung ist für die Angabe der Gesamtkeimzahl nicht erforderlich.

Ergebnisse bei Verdünnung nach Spezifikationen

Verdünnungen werden gemäß der Spezifikation vorgenommen, und eine berechnete Menge der entsprechenden Verdünnung wird der Platte zugegeben.

Beispiele für Verdünnungen nach Spezifikation:

Verdünnung	Inokulation	Spezifikationen
1/10	1-ml-Gießplatte	Negatives Ergebnis < 10 KbE/ml Positives Ergebnis ≥ 10 KbE/ml
1/10	0,1 ml Oberfläche oder Gießplatte	Negatives Ergebnis < 100 KbE/ml Positives Ergebnis ≥ 100 KbE/ml
1/10	0,01 ml Oberflächen-Streifenplatte (Schleife)	Negatives Ergebnis < 1000 KbE/ml Positives Ergebnis ≥ 1000 KbE/ml
1/100	1-ml-Gießplatte	Negatives Ergebnis < 100 KbE/ml Positives Ergebnis ≥ 100 KbE/ml
1/100	0,1 ml Oberfläche oder Gießplatte	Negatives Ergebnis < 1000 KbE/ml Positives Ergebnis ≥ 1000 KbE/ml
1/1000	1-ml-Gießplatte	Negatives Ergebnis < 1000 KbE/ml Positives Ergebnis ≥ 1000 KbE/ml

Qualitätskontrolle

Aussehen dehydrierter Medien: beiges, homogenes, frei fließendes Pulver

Aussehen vorbereiteter Medien (nach Zugabe von Supplement): beige, klar bis trüb

Typische kulturelle Reaktion bei aerober Inkubation bei $30 \pm 1^\circ\text{C}$ und Untersuchung des Wachstums nach 48 Stunden:

Mikroorganismen	WDCM	Ungefähres Inokulum (KbE)	Erwartete Ergebnisse
<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i>	00003	50-200	> 70 % Rückgewinnung, Rot/Pink
<i>Escherichia coli</i>	00013	50-200	> 70 % Rückgewinnung, Rot/Pink
<i>Escherichia coli</i>	00012	50-200	> 70 % Rückgewinnung, Rot/Pink
<i>Staphylococcus aureus</i>	00034	50-200	> 70 % Rückgewinnung, Rot/Pink

Vorsichtsmaßnahmen und Einschränkungen der Methode

1. Verwenden Sie gute mikrobiologische Laborpraktiken gemäß ISO 7218, mit Ausnahme der obligatorischen doppelten Beschichtung für die Auszählung, da die Ein-Platten-Methode nur eine Petrischale erfordert.
2. Einige Stämme können eine schwache oder gar keine Reaktion auf das Diagnose-Supplement zeigen. Da alle Kolonien als Zielkolonien gelten und das Supplement die Zählbarkeit verbessern soll, sollten alle Kolonien unabhängig von ihrer Farbe gezählt werden.
3. Overlays sind nicht zwingend erforderlich, können aber dazu beitragen, die Ausbreitung auf Oberflächen zu verhindern.
4. Koloniezahlen von mehr als 300 KbE pro Platte können zu einer schlechteren Definition der diagnostischen Reaktionen führen. Es wird empfohlen, eine höhere Verdünnung zu verwenden, um höhere Kontaminationsgrade genau aufzuzählen.
5. Sowohl die Nachweisgrenze als auch die Quantifizierung werden durch das Subkulturvolumen bestimmt.
6. Eine Inokulation von 1,0 ml (Gießplatte) einer 1/10-Verdünnung hat eine Nachweisgrenze von 10 KbE/g und ermöglicht es dem Anwender, > 100 KbE/g zu quantifizieren (aufzuzählen).
7. Wenn eine Keimzahlbestimmung ergibt, dass weniger als 10 Kolonien gezählt werden, sollte eine geschätzte Anzahl angegeben werden, z. B. > 10 KbE/g oder > 100 KBE/g (je nach Impfvolumen).

Verifizierung

Die Methodenüberprüfung sollte nach den in ISO 16140:3:2021 beschriebenen Protokollen erfolgen. Das Labor des Anwenders sollte die in Kapitel 5 „Quantitative Methoden – Technisches Prüfprotokoll“ beschriebene Versuchsplanung und Akzeptanzkriterien befolgen.

Bestätigungen

MicroVal (ISO 16140-2:2016)

One Plate TVC wurde von MicroVal als Alternative zur Referenznorm ISO 4833-1:2013 „Horizontales Verfahren zur Auszählung von Mikroorganismen – Teil 1: Koloniezählverfahren bei 30 °C durch die Gießplattentechnik“, gemäß der Referenznorm ISO 16140-2:2016, mit dem Umfang der Auszählung von Mikroorganismen in einer breiten Palette von Lebensmitteln zertifiziert. Weitere Informationen finden Sie im MicroVal-Zertifikat.

Sicherheit

Weitere Informationen finden Sie im entsprechenden Produktsicherheitsdatenblatt (SDB).

Lagerung

Dehydrierte Nährmedien bei 2–30 °C geschützt vor direkter Sonneneinstrahlung lagern. Geöffnete und wieder verschlossene Behälter in eine Umgebung mit niedriger Luftfeuchtigkeit und gleichbleibender Lagertemperatur platzieren. Vor Feuchtigkeit und Licht schützen, indem der Behälter fest verschlossen gehalten wird.

Vorbereitete Medien und/oder Supplements sollten bei 2–8 °C gelagert werden. Nicht einfrieren. Das Supplement kann bis zu 5 Tage bei Raumtemperatur gelagert werden.

Ablauf

Das auf dem Behälter eingetragene Verfallsdatum ist zu beachten. Das dehydrierte Medium sollte verworfen werden, wenn es nicht fließfähig ist oder wenn sich das Aussehen gegenüber der ursprünglichen Farbe verändert hat. Das Verfallsdatum gilt für das Medium in seinem intakten Behälter.

Entsorgung

Kulturen sollten ordnungsgemäß als biologischer Abfall entsorgt werden. Die bevorzugte Behandlungsmethode für biologisch gefährliche Abfälle ist das Autoklavieren. Gegenstände, die nicht autoklaviert werden können, können mit Bleichlösung desinfiziert werden. Wenden Sie sich an den Sicherheitsberater Ihrer Einrichtung, um detaillierte Anweisungen zu erhalten.

Kundenservice

Der Kundendienst und der technische Service von Neogen können über die folgenden Kontaktinformationen erreicht werden:

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Schottland Vereinigtes Königreich

+44 (0) 1292 525600

infoUK@neogen.com

Schulungen zu diesem Produkt und allen Neogen-Testkits sind verfügbar.

Bedingungen

Vollständige Bestimmungen und Bedingungen finden Sie unter <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

Garantie

Die Neogen Corporation übernimmt keinerlei Garantie, weder ausdrücklich noch stillschweigend, außer dass die Materialien, aus denen ihre Produkte hergestellt werden, von Standardqualität sind. Bei Materialfehlern stellt Neogen einen Ersatz für das Produkt zur Verfügung. Der Käufer übernimmt alle Risiken und Haftungen, die sich aus der Verwendung dieses Produkts ergeben. Es wird keine Garantie für die Marktgängigkeit dieses Produkts oder die Eignung des Produkts für einen bestimmten Zweck übernommen. Neogen haftet nicht für Schäden, einschließlich besonderer Schäden oder Folgeschäden, oder für Kosten, die direkt oder indirekt durch die Verwendung dieses Produkts entstehen.



Instrucciones del producto

One Plate Recuento viable total (OP-TVC)

Uso previsto

La solución One Plate Recuento viable total (OP-TVC) ofrece un método rápido para determinar el recuento total de mesófilos aerobios mediante la aplicación de un método de cultivo convencional.

Resumen y explicación del producto

El término recuento viable total (TVC) se refiere a un método de prueba para el recuento de microorganismos capaces de crecer y formar colonias en un medio de cultivo sólido, o sobre este, tras un proceso de incubación en condiciones aeróbicas a 30 °C. Esta prueba se utiliza para determinar la carga biológica microbiana de una amplia gama de alimentos.

La solución One Plate Recuento viable total consiste en una base de agar nutritivo, que proporciona todo el carbono, el nitrógeno y los factores de crecimiento necesarios para propiciar el crecimiento de microorganismos heterótrofos. Después de la esterilización, se añade un suplemento de diagnóstico adicional destinado a identificar y teñir las unidades formadoras de colonias que expresan la actividad metabólica. Este tinte mejora la capacidad de identificación y recuento de colonias en el agar.

El uso de este producto permite la obtención de resultados cuantitativos para el recuento total viable en un plazo de entre 36 y 48 horas para todos los productos alimenticios. Además, este resultado es posible con el uso de solo una placa, y no dos o más, conforme a lo establecido en las normas ISO 7218 e ISO 4833 (ambas partes).

Usuario previsto

El diseño del método prevé su aplicación solo por parte de personal calificado y con una formación adecuada.

Códigos de producto

NOTA: A fin de conocer los diluyentes específicos para muestras adecuadas, consulte la norma ISO 6887, partes 1 a 5.

Nombre del producto	Presentación	Tamaño del envase	SKU	
One Plate TVC	DCM	500 g	700006967	NCM1018A
		5 kg	700006968	NCM1018B
		10 kg	700006969	NCM1018C
		25 kg	700006970	NCM1018D
Suplemento de diagnóstico de la solución One Plate TVC	Suplemento listo para líquidos	1 frasco de 100 ml	700006971	NCM4094-200
One Plate TVC	Placas de agar preparado*	Placas de 20 x 90 mm de agar	A demanda	
		Placas de 100 x 90 mm de agar	A demanda	
One Plate TVC	Agar listo para volver a fundir**	1 frasco de 250 ml	A demanda	

* Las placas de agar preparado no requieren suplementación de ningún tipo.

** El agar listo para volver a fundir se debe recuperar con un baño de vapor de agua (si desea obtener más información, consulte la norma ISO 7218). Los medios de cultivo se deben suplementar después del temple.

Composición genérica

La formulación se puede ajustar o complementar a fin de satisfacer el cumplimiento de las especificaciones de rendimiento.

Peptona	8.5 g/l
Mezcla de cultivo	4.65 g/l
Agar	10.0 g/l

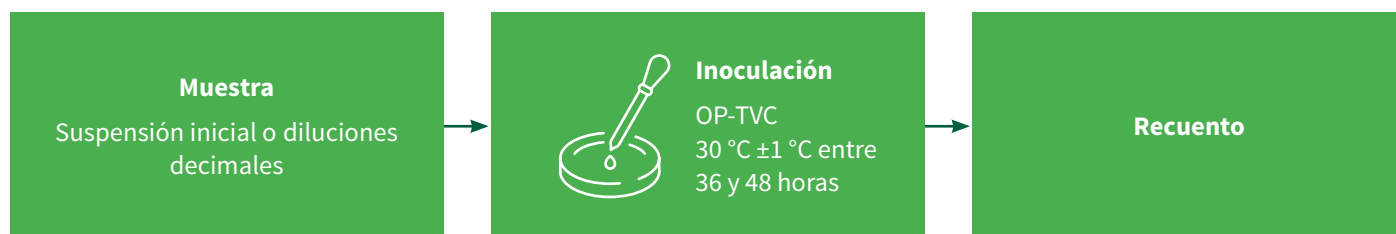
pH del medio de cultivo preparado a 25 °C: pH 6.3 ±0.1.

Preparación del medio de cultivo

Suspenda 23.15 g del medio de cultivo en 1 litro de agua purificada. Agite de forma permanente para que el medio de cultivo se disuelva por completo. Coloque la placa en un sistema de autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Refrigere entre 45 °C y 50 °C. En condiciones asépticas, añada 0.5 ml del suplemento de diagnóstico One Plate TVC (NCM4094-200); revuelva para mezclar y, por último, vierta en placas de Petri.

NOTA: El suplemento de diagnóstico One Plate TVC no contribuye a ningún requisito de cultivo. Si el suplemento no se añade, las colonias presentarán una coloración natural de color amarillo claro o beige.

Diagrama de flujo de la solución OP-TVC



Preparación de la muestra

En relación con la suspensión inicial y las diluciones, respete las especificaciones que se detallan en la norma ISO 6887, o bien en la norma internacional específica pertinente, para el producto en cuestión.

Inoculación en superficie

1. Transfiera 1 ml de la suspensión, o cualquier dilución en serie, sobre la superficie de **UNA** sola placa de agar preparado o previamente vertido con la solución OP-TVC.
2. Con la ayuda de un esparcidor estéril, extienda el inóculo sobre la superficie.

NOTAS: Para la inoculación en superficies, es posible aplicar técnicas automáticas de sembrado de placas en espiral. En el caso de que se desconozca el índice de contaminación genérico, podría ser necesario el uso de diluciones decimales. A fin de calcular cifras pequeñas, esparza 1 ml de la dilución primaria sobre la superficie de tres placas preparadas, como se describe en la norma ISO 7218.

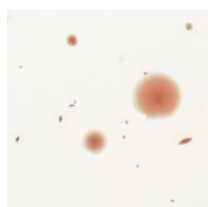
Inoculación en placa de vertido

1. Transfiera 1 ml de la muestra —si es líquida—, 1 ml de la suspensión —en el caso de otros productos— o cualquier dilución en serie a **UNA** placa de Petri vacía y estéril.
2. Vierta entre 15 y 20 ml de la solución OP-TVC fundida en la placa. Revuelva hasta lograr una mezcla homogénea y deje solidificar sobre una superficie fría.

NOTA: No es obligatorio que realice ningún recubrimiento, pero hacerlo puede ayudar a prevenir la propagación de cultivo sobre la superficie del agar. Para realizar un recubrimiento, añada entre 4 y 6 ml de agar fundido sobre el agar preparado y espere hasta que se solidifique. Luego, proceda a la incubación, como se describe en la norma ISO 7218.

Incubación

Invierta la placa preparada y colóquela en incubación a 30 °C ±1 °C entre 36 y 48 horas.



Interpretación

El crecimiento microbiano se presentará como colonias de color rojo a rosado sobre un fondo translúcido. Es posible que algunos microorganismos se presenten como una reacción débil o inexistente; sin embargo, todas las unidades formadoras de colonias se deben interpretar como organismos viables, más allá del color que tengan.

Recuento de unidades formadoras de colonias

Realice el recuento de todas las colonias, más allá del color que tengan. Asegúrese de no confundir las partículas de restos de la matriz con colonias. Examine con suma atención los objetos que presenten alguna duda. Para ello, aumente el tamaño del objeto si es necesario.

Seleccione la placa que presente entre 10 y 300 colonias para lograr un recuento más preciso. Si los resultados arrojan valores fuera de los límites establecidos, consulte la norma ISO 7218. Aplique los factores de dilución. Al hacerlo, se elimina la necesidad de tener que contar con dos diluciones sucesivas o duplicadas.

En relación con el recuento de la expresión del recuento total viable, no es necesario que se implemente un método de confirmación.

Resultados de dilución según especificaciones

Las diluciones se efectúan en función de las especificaciones; a continuación, se añade la cantidad calculada de esa dilución a la placa.

A continuación, se presentan algunos ejemplos de diluciones según cada especificación:

Dilución	Inoculación	Especificaciones
1/10	1 ml en placa de vertido	Resultado negativo <10 UFC/ml Resultado positivo ≥10 UFC/ml
1/10	0.1 ml en superficie o placa de vertido	Resultado negativo <100 UFC/ml Resultado positivo ≥100 UFC/ml
1/10	0.01 ml en superficie (bucle) de placa por estrías	Resultado negativo <1000 UFC/ml Resultado positivo ≥1000 UFC/ml
1/100	1 ml en placa de vertido	Resultado negativo <100 UFC/ml Resultado positivo ≥100 UFC/ml
1/100	0.1 ml en superficie o placa de vertido	Resultado negativo <1000 UFC/ml Resultado positivo ≥1000 UFC/ml
1/1000	1 ml en placa de vertido	Resultado negativo <1000 UFC/ml Resultado positivo ≥1000 UFC/ml

Control de calidad

Aspecto del medio de cultivo deshidratado: polvo color beige, homogéneo y fluido

Aspecto del medio de cultivo preparado (tras la adición del suplemento): beige, claro a turbio

Respuesta genérica del cultivo cuando se incuba en condiciones aeróbicas a 30 °C ±1 °C; el crecimiento se examina a las 48 horas:

Microorganismo	WDCM	Inóculo apróx. (UFC)	Resultados esperados
<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i>	00003	50-200	>70 % de la recuperación, de rojo a rosa
<i>Escherichia coli</i>	00013	50-200	>70 % de la recuperación, de rojo a rosa
<i>Escherichia coli</i>	00012	50-200	>70 % de la recuperación, de rojo a rosa
<i>Staphylococcus aureus</i>	00034	50-200	>70 % de la recuperación, de rojo a rosa

Precauciones y limitaciones relacionadas con el método

1. Siga las buenas prácticas de laboratorio de microbiología que se mencionan en la norma ISO 7218. Esta indicación no rige para la duplicación obligatoria de placas para fines de recuento, ya que el método One Plate solo requiere el uso de una placa de Petri.
2. Es posible que algunas cepas presenten una reacción débil o inexistente ante el suplemento de diagnóstico. Debido a que todas las colonias se consideran diana y el suplemento está destinado a mejorar la capacidad de recuento, todas las colonias se deben computar, más allá del color que tengan.
3. No es obligatorio que realice ningún recubrimiento, pero hacerlo puede ayudar a prevenir la propagación en superficie.
4. Los recuentos de colonias superiores a 300 UFC por placa pueden dar lugar a una definición bastante inferior de las reacciones diagnósticas; se aconseja utilizar una dilución más alta para lograr un recuento preciso en niveles más altos de contaminación.
5. El volumen del cultivo secundario determina tanto el límite de detección como el de cuantificación.
6. Una inoculación de 1.0 ml (placa de vertido) de una dilución con una relación 1/10 tiene un límite de detección de 10 UFC/g; además, permite que el usuario cuantifique (recuento) a >100 UFC/g.
7. Si algún recuento en placa arroja un resultado inferior a 10 colonias contadas, se debe expresar con un número estimado; por ejemplo, se debe informar >10 UFC/g o >100 UFC/g (según el volumen de inoculación).

Comprobación

La comprobación del método se debe realizar conforme a los protocolos descritos en la norma ISO 16140:3:2021.

El laboratorio usuario debe seguir los criterios de diseño experimental y de aceptación que se describen en el capítulo 5, “Métodos cuantitativos. Protocolo técnico de comprobación”.

Validaciones

MicroVal (norma ISO 16140-2:2016)

MicroVal ha emitido un certificado para la solución One Plate TVC como alternativa a la norma de referencia ISO 4833-1:2013, “Método horizontal para el recuento de microorganismos. Parte 1: Recuento de colonias a 30 °C mediante la técnica de siembra en profundidad”, según la norma de referencia ISO 16140-2:2016. Alcance de recuento de microorganismos en una amplia gama de alimentos. Para obtener más información, consulte el certificado extendido por MicroVal.

Seguridad

Consulte la ficha de datos de seguridad (FDS) del producto pertinente.

Almacenamiento

Almacene los medios de cultivo deshidratados a una temperatura de entre 2 °C y 30 °C. Mantenga los medios de cultivo alejados de la luz solar directa. Una vez abierto y vuelto a tapar, coloque el recipiente en un entorno con baja humedad y que esté a la misma temperatura de almacenamiento. Para proteger el medio de cultivo de la humedad y la exposición a la luz, mantenga el recipiente bien cerrado.

Los medios de cultivos preparados o los suplementos se deben almacenar a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C. No se debe congelar. El suplemento se puede almacenar a temperatura ambiente hasta por cinco días.

Vencimiento

Consulte la fecha de vencimiento que se encuentra indicada en el envase. El medio de cultivo deshidratado se debe desechar siempre que no tenga un flujo suelto o si ha cambiado la apariencia con respecto al color original. La fecha de vencimiento se aplica al medio de cultivo en el recipiente sin abrir.

Desecho

Los cultivos se deben desechar de forma adecuada como residuos de riesgo biológico. El método de tratamiento de preferencia para los residuos de riesgo biológico es el uso de un autoclave. Aquellos elementos que no se pueden esterilizar en autoclave se pueden desinfectar con una solución de lejía. Para obtener instrucciones detalladas al respecto, consulte con el responsable de seguridad del centro designado.

Servicio de atención al cliente

Si necesita ponerse en contacto con el servicio de atención al cliente o con el servicio técnico de Neogen, utilice la información de contacto a continuación:

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Escocia, RU

+44 (0) 1292 525600

infoUK@neogen.com

Se ofrecen sesiones de capacitación sobre el uso de este producto, así como para todos los kits de prueba de Neogen.

Términos y condiciones

Para consultar los términos y condiciones completos, visite <https://www.neogen.com/terms-and-conditions> (en inglés).

Garantía

Neogen no otorga garantías de ningún tipo, ya sean expresas o implícitas, excepto el hecho de que los materiales de sus productos están fabricados con calidad estándar. Si hay materiales defectuosos, Neogen reemplazará el producto. El comprador asume todos los riesgos y responsabilidades que surjan del uso de este producto. No existe garantía de comercialización de este producto o de la idoneidad de este producto para cualquier objetivo. Neogen no será responsable por los daños de ningún tipo, incluidos daños especiales o mediatos, o gastos que surjan directa o indirectamente del uso de este producto.



Instruções do produto

One Contagem viável total (OP-TVC)

Uso previsto

O One Plate Contagem viável total (OP-TVC) oferece um método rápido para a enumeração de mesófilos aeróbios totais usando a metodologia de cultura tradicional.

Resumo e explicação do produto

O Contagem viável total (TVC) é o método de teste para a enumeração de microrganismos capazes de crescer e formar colônias em meio sólido após a incubação aeróbia a 30 °C. O teste é usado para determinar a carga biológica microbiana de uma ampla gama de alimentos.

O One Plate Contagem viável total consiste em uma base de ágar nutriente, que fornece todos os fatores de carbono, nitrogênio e crescimento necessários para suportar o crescimento de todos os microrganismos heterotróficos. Um suplemento diagnóstico adicional é acrescentado pós-esterilização para indicar e colorir unidades formadoras de colônias, expressando atividade metabólica. Essa coloração melhora a capacidade de identificar e enumerar colônias no ágar.

O produto pode permitir um resultado quantitativo para a contagem total viável de 36 a 48 horas para todos os produtos alimentícios, usando apenas uma placa versus duas ou mais, conforme descrito na norma ISO 7218, ISO 4833 (ambas as partes).

Uso previsto

O método é projetado para uso por pessoal qualificado com treinamento apropriado.

Códigos de produto

OBSERVAÇÃO: consulte a norma ISO 6887 partes 1 a 5 para obter diluentes específicos de amostra adequados.

Nome do produto	Formato	Tamanho do pacote	SKU	
One Plate TVC	DCM	500 g	700006967	NCM1018A
		5 kg	700006968	NCM1018B
		10 kg	700006969	NCM1018C
		25 kg	700006970	NCM1018D
Suplemento de diagnóstico One Plate TVC	Suplemento pronto para líquidos	1 frasco de 100 mL	700006971	NCM4094-200
One Plate TVC	Placas de ágar preparadas*	Placas de ágar 20 x 90 mm	Sob consulta	
		Placas de ágar 100 x 90 mm	Sob consulta	
One Plate TVC	Ágar pronto para refundir**	1 frasco de 250 mL	Sob consulta	

*As placas de ágar preparadas não precisam de suplementação.

**O ágar pronto para refundir deve ser derretido em banho-maria fumegante (consulte a norma ISO 7218 para obter mais orientações). Os meios devem ser suplementados após a têmpera.

Composição típica

A formulação pode ser ajustada e/ou complementada conforme necessário para satisfazer as especificações de desempenho.

Peptona	8,5 g/L
Mix de crescimento	4,65 g/L
Ágar	10,0 g/L

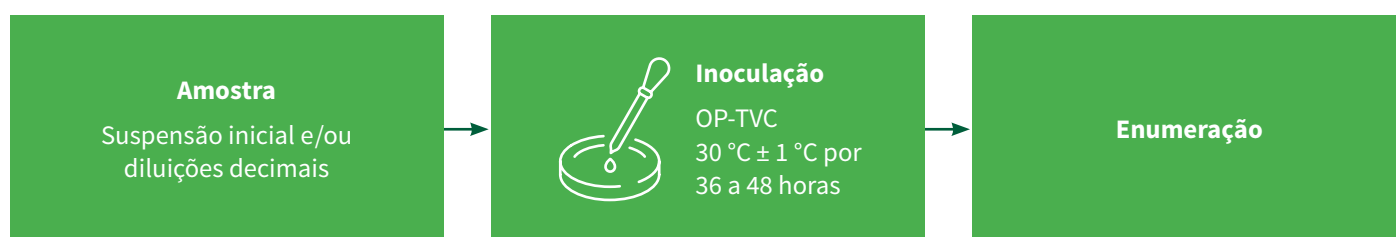
pH do meio preparado a 25 °C: pH 6,3 ± 0,1.

Preparação

Suspenda 23,15 g do meio em 1 litro de água purificada. Agite com frequência para dissolver completamente o meio. Autoclave a 121 °C por 15 minutos. Resfrie até 45 °C a 50 °C. Adicione assepticamente 0,5 mL do suplemento de diagnóstico One Plate TVC (NCM4094-200), gire para misturar e despeje em placas de Petri.

OBSERVAÇÃO: o suplemento de diagnóstico One Plate TVC não contribui com nenhum requisito de crescimento. Se o suplemento não for adicionado, as colônias ficarão na coloração natural de palha.

Fluxograma de OP-TVC



Preparo da amostra

Siga as especificações da norma ISO 6887 ou da norma internacional específica adequada ao produto em questão para a suspensão inicial e diluições.

Inoculação de superfície

1. Transfira 0,1 mL da suspensão, ou qualquer diluição em série, para a superfície de **UMA** única placa de ágar OP-TVC preparada ou pré-derramada.
2. Espalhe o inóculo na superfície com o auxílio de um espalhador estéril.

OBSERVAÇÕES: técnicas de deposição em espiral automática podem ser usadas para inoculação de superfície. Poderão ser necessárias diluições decimais se a gama de contaminação típica for desconhecida. Para estimar pequenos números, espalhe 1 mL da diluição primária sobre a superfície de 3 placas preparadas, conforme descrito na norma ISO 7218.

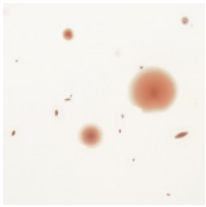
Inoculação em placas de derramamento

1. Transfira 1 mL da amostra se for líquida ou 1 mL da suspensão no caso de outros produtos, ou quaisquer diluições em série, em **UMA** placa de Petri vazia e estéril.
2. Despeje aproximadamente 15 a 20 mL de OP-TVC fundido na placa. Homogeneize bem girando e deixe solidificar em uma superfície fria.

OBSERVAÇÃO: As sobreposições não são obrigatórias, mas podem ajudar a prevenir a propagação do crescimento na superfície do ágar. Nesse caso, adicione de 4 a 6 mL de ágar fundido sobre o ágar solidificado e deixe solidificar antes da incubação, conforme descrito na norma ISO 7218.

Incubação

Inverta a placa preparada e incube a 30 ± 1 °C durante 36 a 48 horas.



Interpretação

O crescimento microbiano se apresentará como colônias vermelhas/rosas em um fundo transparente. Alguns microrganismos podem apresentar reação fraca ou nenhuma reação, mas todas as unidades formadoras de colônias devem ser interpretadas como organismos viáveis, independentemente da cor.

Contagem de unidades de formação de colônia

Conte todas as colônias, independentemente da cor, e tome cuidado para evitar confundir partículas de detritos de matriz com colônias. Examine objetos duvidosos cuidadosamente, usando maior ampliação quando necessário.

Selecione a placa contendo de 10 a 300 colônias para uma enumeração precisa. Consulte a norma ISO 7218 quando os resultados estiverem fora dos limites. Aplique os fatores de diluição, o que elimina a necessidade de duas diluições sucessivas ou duplicatas.

A confirmação não é necessária para a expressão da contagem total viável.

Dilua de acordo com os resultados das especificações

As diluições são feitas de acordo com a especificação e uma quantidade calculada da diluição apropriada é adicionada à placa.

Exemplos de diluições de especificação:

Diluição	Inoculação	Especificações
1/10	1 mL de placa de derramamento	Resultado negativo <10 CFU/mL Resultado positivo ≥ 10 CFU/mL
1/10	0,1 mL de placa de superfície ou derramamento	Resultado negativo <100 CFU/mL Resultado positivo ≥ 100 CFU/mL
1/10	Placa de raia de superfície (alça) de 0,01 mL	Resultado negativo <1000 CFU/mL Resultado positivo ≥ 1000 CFU/mL
1/100	1 mL de placa de derramamento	Resultado negativo <100 CFU/mL Resultado positivo ≥ 100 CFU/mL
1/100	0,1 mL de placa de superfície ou derramamento	Resultado negativo <1000 CFU/mL Resultado positivo ≥ 1000 CFU/mL
1/1000	1 mL de placa de derramamento	Resultado negativo <1000 CFU/mL Resultado positivo ≥ 1000 CFU/mL

Controle de qualidade

Aparência de meio desidratado: pó bege, homogêneo e de fluxo livre

Aparência de meio preparado (após a adição do suplemento): bege, claro à turvo

Resposta cultural típica quando incubada de modo aeróbio a 30 ± 1 °C e examinada quanto ao crescimento por 48 horas:

Microrganismo	WDCM	Inóculo aprox. (CFU)	Resultados esperados
<i>Bacillus subtilis subsp. spizizenii</i>	00003	50-200	>70% recuperação, vermelho/rosa
<i>Escherichia coli</i>	00013	50-200	>70% recuperação, vermelho/rosa
<i>Escherichia coli</i>	00012	50-200	>70% recuperação, vermelho/rosa
<i>Staphylococcus aureus</i>	00034	50-200	>70% recuperação, vermelho/rosa

Precauções e limitações do método

1. Use boas práticas laboratoriais de microbiologia de acordo com a norma ISO 7218, exceto o revestimento duplicado obrigatório para enumeração, pois o método do One Plate requer apenas uma placa de Petri.
2. Algumas cepas podem apresentar uma reação fraca ou ausente do suplemento de diagnóstico. Como todas as colônias são consideradas alvo e o suplemento destina-se a melhorar a capacidade de contagem, todas as colônias devem ser contadas, independentemente da cor.
3. As sobreposições não são obrigatórias, mas podem ajudar a evitar a propagação da superfície.
4. Contagens de colônias superiores a 300 CFU por placa podem levar a uma pior definição das reações diagnósticas. Recomenda-se que uma diluição mais alta seja usada para enumerar com precisão níveis mais altos de contaminação.
5. Tanto o limite de detecção quanto o limite de quantificação são ditados pelo volume da subcultura.
6. Uma inoculação de 1,0 mL (placa de derramamento) de uma diluição de 1/10 tem um limite de detecção de 10 CFU/g e permite ao usuário quantificar (enumerar) > 100 CFU/g.
7. Se uma contagem de placas resultar em menos de 10 colônias contadas, um número estimado deverá ser expresso, por exemplo, relatar >10 CFU/g ou >100 CFU/g (dependendo do volume de inoculação).

Verificação

A verificação do método deve ser feita seguindo os protocolos descritos na norma ISO 16140:3:2021. O laboratório do usuário deve seguir os critérios de concepção experimental e de aceitação descritos no capítulo 5, "Métodos quantitativos — Protocolo técnico de verificação".

Validações

MicroVal (ISO 16140-2:2016)

O One Plate TVC foi certificado pela MicroVal como uma alternativa à referência ISO 4833-1:2013 Método horizontal para a enumeração de microrganismos — Parte 1: Contagem de colônias a 30 °C pela técnica de placa de derramamento, de acordo com a norma de referência ISO 16140-2:2016, com o escopo de enumeração de microrganismos em uma ampla gama de alimentos. Consulte o certificado da MicroVal para obter mais informações.

Segurança

Consulte a ficha de dados de segurança do produto (SDS) relevante.

Armazenamento

Armazene meios de cultura desidratados a 2 a 30 °C longe da luz solar direta. Depois de aberto e reencapado, coloque o recipiente em um ambiente de baixa umidade na mesma temperatura de armazenamento. Proteja da umidade e da luz mantendo o recipiente bem fechado.

Os meios preparados e/ou suplementos devem ser armazenados a 2 a 8 °C. Não congele. O suplemento pode ser armazenado à temperatura ambiente por até 5 dias.

Expiração

Consulte a data de validade estampada no recipiente. O meio desidratado deverá ser eliminado se não fluir livremente ou se a aparência tiver mudado em relação à cor original. A expiração aplica-se ao meio no recipiente intacto.

Descarte

As culturas devem ser descartadas adequadamente como resíduos de risco biológico. O método preferido de tratamento para resíduos de risco biológico é a autoclave. Os itens que não podem ser autoclavados podem ser desinfetados com solução de água sanitária. Consulte o consultor de segurança da sua instalação para obter instruções detalhadas.

Atendimento ao cliente

Os serviços técnicos e os serviços ao cliente da Neogen podem ser contatados usando as seguintes informações:

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Escócia Reino Unido

+44 (0) 1292 525600

infoUK@neogen.com

O treinamento sobre este produto e todos os kits de teste da Neogen está disponível.

Termos e Condições

Para obter os termos e condições completos, acesse <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

Garantia

A Neogen Corporation não oferece nenhum tipo de garantia, expressa ou implícita, exceto que os materiais a partir dos quais seus produtos são feitos são de qualidade padrão. Se algum material estiver com defeito, a Neogen providenciará a substituição do produto. O comprador assume todos os riscos e responsabilidades resultantes da utilização deste produto. Não há garantia de comercialização deste produto ou da adequação do produto para qualquer finalidade. A Neogen não será responsável por danos, incluindo danos especiais ou consequenciais, ou despesas decorrentes direta ou indiretamente do uso deste produto.



製品説明

One Plate 総生菌数 (OP-TVC)

使用目的

One Plate 総生菌数 (OP-TVC) は、従来の培養法を利用して中温性好気性菌の総数を迅速に計数する方法です。

製品概要と説明

総生菌数 (TVC) は、30℃ での好気性インキュベーション後に固体培地上/固体培地中で発育しコロニーを形成できる微生物を計数する検査方法です。この検査は、さまざまな食品の微生物バイオバーデンを測定するために使用されます。

One Plate 総生菌数は、あらゆる従属栄養微生物の発育をサポートするために必要な炭素、窒素、および成長因子を供給する栄養寒天培地をベースとしています。代謝活性を発現しているコロニー形成単位を色付けして示す診断用添加剤を、滅菌後に添加します。この着色により、寒天上または寒天内のコロニーの識別および計数が容易になります。

本製品を使用すると、ISO 7218 および ISO 4833 (両方) に記載の 2 枚以上のプレートを使用する方法に対して、1 枚のプレートのみであらゆる食品について 36 ～ 48 時間で総生菌数の定量結果を得ることができます。

対象使用者

この方法は適切なトレーニングを受けた有資格者による使用を対象としています。

製品コード

注: 各検体に適した希釈液については、ISO 6887 パート 1 ～ 5 を参照してください。

製品名	形態	パッケージ サイズ	SKU	
One Plate TVC	DCM	500 g	700006967	NCM1018A
		5 kg	700006968	NCM1018B
		10 kg	700006969	NCM1018C
		25 kg	700006970	NCM1018D
One Plate TVC 診断用添加剤	Ready-to-Use の液状添加剤	100 mL ボトル x 1 本	700006971	NCM4094- 200
One Plate TVC	調製済み寒天プレート*	90 mm 寒天プレート x 20 枚	要望に応じて提供	
		90 mm 寒天プレート x 100 枚	要望に応じて提供	
One Plate TVC	再溶解寒天培地**	250 mL ボトル x 1 本	要望に応じて提供	

*調製済み寒天プレートには添加剤は不要です。

**再溶解寒天培地は沸騰水浴中で溶解します (詳細については、ISO 7218 を参照してください)。焼き戻し後に培地に添加剤を添加してください。

一般的な組成

性能規定を満たすために必要に応じて配合を調整および/または補充できます。

ペプトン	8.5 g/L
発育促進剤	4.65 g/L
寒天	10.0 g/L

調製した培地の pH (25°C): pH 6.3 ± 0.1。

準備

23.15 g の培地を 1 リットルの精製水に懸濁します。頻繁に攪拌して、培地を完全に溶解させます。121°C で 15 分間オートクレーブします。45 ~ 50°C に冷却します。One Plate TVC 診断用添加剤 (NCM4094-200) 0.5 mL を滅菌状態で添加し、ぐらぐらと混ぜてからシャーレに注ぎます。

注: One Plate TVC 診断用添加剤は、発育に必要な栄養素は含みません。添加剤を添加しない場合、コロニーは本来の麦わら色/淡黄色となります。

OP-TVC の作業工程図



検体準備

初期懸濁液および希釈液については、ISO 6887 の規定、または該当する製品に適した特定の国際規格に従ってください。

表面接種

1. 懸濁液または連続希釈液 0.1 mL を **1 枚** の調製済みまたは注入済みの OP-TVC 寒天プレートに滴下します。
2. 滅菌スプレッターを使って接種材料を表面に塗抹します。

注: 表面接種には、自動スパイラル プレーター塗抹法を使用できます。典型的な汚染量の範囲が不明な場合は、10 倍希釈液が必要になることがあります。小数を推定するには、ISO 7218 に記載されているように、一次希釈液 1 mL を 3 枚の調製済みプレートの表面に塗抹します。

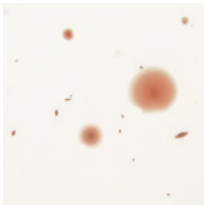
混釈平板法による接種

1. 検体 (液体の場合) 1 mL または懸濁液 (液体以外の製品の場合) もしくは連続希釈液 1 mL を空の滅菌シャーレ **1 枚** に滴下します。
2. 溶解済み OP-TVC 約 15 ~ 20 mL をプレートに注ぎます。ぐらぐらと混ぜて十分に均質化し、冷たい台の上で固化させます。

注: 重層は必須ではありませんが寒天表面の拡散コロニーを防止できます。重層を行う場合、固化した寒天の上に 4 ~ 6 mL の溶融寒天を加え、ISO 7218 の指示に従いインキュベーション前に固化させます。

インキュベーション

調製済みのプレートを倒置し、30 ± 1°C で 36 ~ 48 時間インキュベートします。



解釈

微生物の発育は、透明な背景に対して赤色/ピンク色のコロニーとして現れます。反応が弱い、またはまったく反応を示さない微生物が現れる場合もありますが、色に関係なくすべてのコロニー形成単位を生菌とみなします。

コロニー形成単位の計数

色に関係なくすべてのコロニーを数えると同時に、マトリックスの残屑粒子をコロニーと間違えないように注意してください。疑わしい物体は、必要に応じて高倍率で注意深く調べてください。

正確な計数のために、10～300個のコロニーを含むプレートを選びます。結果が限界値を超えている場合は、ISO 7218を参照してください。希釈倍率を適用すると、2回の連続希釈や複製の必要がなくなります。

総生菌数については発現確認は不要です。

規定希釈倍率ごとの結果

規定通りに希釈を行い、計算された適切な量の希釈液をプレートに滴下します。

規定希釈液の例:

希釈倍率	接種	仕様
1/10	1 mL 混釈平板法	陰性結果 <10 CFU/mL 陽性結果 ≥ 10 CFU/mL
1/10	0.1 mL 表面塗抹法または混釈平板法	陰性結果 <100 CFU/mL 陽性結果 ≥ 100 CFU/mL
1/10	0.01 mL 表面 (ループ) ストリークプレート法	陰性結果 <1000 CFU/mL 陽性結果 ≥ 1000 CFU/mL
1/100	1 mL 混釈平板法	陰性結果 <100 CFU/mL 陽性結果 ≥ 100 CFU/mL
1/100	0.1 mL 表面塗抹法または混釈平板法	陰性結果 <1000 CFU/mL 陽性結果 ≥ 1000 CFU/mL
1/1000	1 mL 混釈平板法	陰性結果 <1000 CFU/mL 陽性結果 ≥ 1000 CFU/mL

品質管理

乾燥培地の外観: ベージュ色、均質、流動性の粉末

調製済み培地の外観 (添加剤追加後): ベージュ色、透明～微濁

30 ± 1°C で好氣的にインキュベートし、48 時間後に発育を調べた場合の典型的な培養反応:

微生物	WDCM	接種量の概算 (CFU)	期待される結果
枯草菌亜種 <i>spizizenii</i>	00003	50-200	回収率 >70%、赤色/ピンク色
大腸菌	00013	50-200	回収率 >70%、赤色/ピンク色
大腸菌	00012	50-200	回収率 >70%、赤色/ ピンク色
黄色ブドウ球菌	00034	50-200	回収率 >70%、赤色/ ピンク色

この方法の注意事項と制限

1. ISO 7218 に準拠した適切な微生物検査室の慣行に従います。ただし、One Plate 法はシャーレを 1 枚しか必要としないため、計数に必須のプレート複製は除きます。
2. 菌株によっては、診断用添加剤に対する反応が弱い、またはまったく反応を示さない場合があります。すべてのコロニーが対象であり、添加剤は計数を容易にすることを目的としているため、色に関係なくすべてのコロニーを数える必要があります。
3. 重層は必須ではありませんが表面の拡散コロニーを防止できます。
4. プレートあたりのコロニー数が 300 CFU を超える場合、診断反応の正確性が不十分になる可能性があります。汚染量が高い場合は、希釈倍率を上げて正確な計数を行うことが推奨されます。
5. 検出限界および定量限界はいずれも継代培養の量によって決まります。
6. 1/10 希釈液を 1.0 mL 接種 (混釈平板法) すると、検出限界は 10 CFU/g となり、100 CFU/g を超える量を定量 (計数) できます。
7. プレート計数の結果コロニーが 10 個未満であった場合は、推定数を表記する必要があります (例: 接種量に応じて、 >10 CFU/g または >100 CFU/g と報告します)。

検証

方法の検証は、ISO 16140:3:2021 に記載のプロトコルに従って行います。この方法を使用する検査室は、第 5 章「定量法—検証のための技術プロトコル」に記載されている実験計画および合否基準に従う必要があります。

妥当性確認

MicroVal (ISO 16140-2:2016)

One Plate TVC は、参照基準 ISO 4833-1:2013 微生物の計数のための水平法 — パート 1: 混釈平板法による 30°C でのコロニー計数法の代替法として MicroVal 認定を受けており、さまざまな食品における微生物の計数の範囲において参照基準 ISO 16140-2:2016 に準拠しています。詳細については、MicroVal 証明書を参照してください。

安全性

関連する製品安全データシート (SDS) を参照してください。

保管

乾燥培地は、直射日光を避けて 2 ~ 30°C で保管してください。開封後に再度蓋を閉めたら、上記の保管温度かつ低湿度の環境で容器を保管します。容器をしっかりと閉めて、湿気や光から保護してください。

調製済みの培地および/または添加剤は、2 ~ 8°C で保管してください。凍らせないでください。添加剤は室温で最大 5 日間保管できます。

使用期限

容器に刻印されている使用期限を確認してください。乾燥培地は、流動性がない場合または外観が元の色から変色した場合は廃棄してください。使用期限は、破損していない容器に入った培地に適用されます。

廃棄

培養物はバイオハザード廃棄物として適切に廃棄する必要があります。バイオハザード廃棄物の処理方法として、オートクレーブが推奨されます。オートクレーブ処理できないものについては、漂白剤溶液で消毒できます。詳細な手順については、施設の安全アドバイザーに相談してください。

カスタマーサービス

NEOGEN のカスタマーサービスおよびテクニカルサービスには以下からお問い合わせください。

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Scotland UK

+44 (0) 1292 525600

infoUK@neogen.com

本製品および NEOGEN のすべての検査キットに関するトレーニングをご利用いただけます。

利用規約

ご利用規約全文は以下のリンクからご覧いただけます。<https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

保証

NEOGEN Corporationは、製品の原材料が標準的な品質であることを除き、明示または黙示を問わずいかなる保証も行いません。材料に欠陥がある場合、NEOGEN は製品を交換いたします。購入者は、本製品の使用に関するすべてのリスクと責任を負うものとします。本製品の商品性、またはいかなる目的に対する製品の適合性も保証しません。NEOGEN は、本製品の使用により直接的または間接的に生じる特別損害もしくは結果的損害、または費用を含むいかなる損害についても責任を負わないものとします。



产品说明

One Plate 总活菌数 (OP-TVC)

预期用途

One Plate 总活菌数 (OP-TVC) 提供了一种使用传统培养方法对总需氧嗜温菌计数的快速方法。

产品概述和说明

总活菌数 (TVC) 是在 30°C 有氧培育后, 能够在固体培养基之上/之中生长并形成菌落的微生物计数测试方法。该测试用于确定各种食物的微生物负荷。

One Plate 总活菌数由营养琼脂基底组成, 该基底提供所有必需的碳、氮和生长因子, 以支持所有异养微生物的生长。灭菌后, 添加额外的诊断补充剂, 以指示和着色表达代谢活性的菌落形成单位。这种着色提高了识别和计数琼脂之上或之中的菌落的能力。

该产品仅使用一张测试片, 就可以在 36-48 小时内获得各种食品的总活菌数定量结果, 而在 ISO 7218、ISO 4833 (两个部分) 中, 则需要两张或更多。

目标用户

该方法旨在供经过适当培训的合格人员使用。

产品代码

注: 请参阅 ISO 6887 第 1-5 部分, 了解合适的样品特定稀释剂。

产品名称	格式	包装大小	SKU	
One Plate TVC	DCM	500 g	700006967	NCM1018A
		5 kg	700006968	NCM1018B
		10 kg	700006969	NCM1018C
		25 kg	700006970	NCM1018D
One Plate TVC 诊断补充剂	液体即用补充剂	1 x 100 mL 瓶	700006971	NCM4094-200
One Plate TVC	制备的琼脂测试片*	20 x 90 mm 琼脂测试片	根据要求	
		100 x 90 mm 琼脂测试片	根据要求	
One Plate TVC	准备重新熔化琼脂**	1 x 250 mL 瓶	根据要求	

*制备的琼脂测试片不需要补充。

**准备重新熔化琼脂应在蒸汽水浴中熔化 (请参阅 ISO 7218 以获取进一步的指导)。回火后, 应补充培养基。

典型成分

可以根据需要，调整和/或补充配方，以满足性能规格。

蛋白胨	8.5 g/L
增长组合	4.65 g/L
琼脂	10.0 g/L

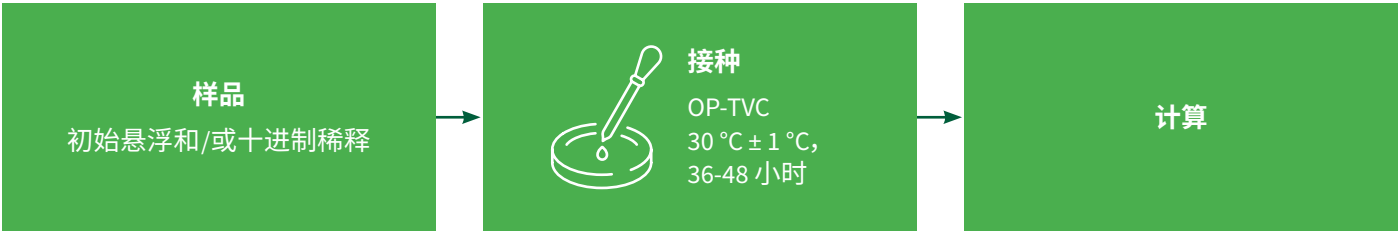
制备培养基在 25°C 时的 pH 值: pH 值 6.3 ± 0.1。

制备

将 23.15g 培养基悬浮在 1 升纯净水中。频繁搅拌，以便完全溶解培养基。在 121°C 下高压灭菌 15 分钟。冷却至 45-50°C。无菌加入 0.5 mL One Plate TVC 诊断补充剂 (NCM4094-200)，旋转混合，然后倒入陪替氏培养皿中。

注One Plate TVC 诊断补充剂不会增加生长要求。如果不添加补充剂，菌落将呈现为天然的稻草/浅黄色。

OP-TVC 流程图



样品制备

遵循 ISO 6887 的规范或适用于相关产品的特定国际标准，进行初始悬浮和稀释。

表面接种

1. 将 0.1 mL 的悬浮液或任意序列稀释液转移到**一张**制备或预倾倒的 OP-TVC 琼脂测试片的表面。
2. 借助无菌撒布器，将接种物铺在表面上。

注: 自动螺旋平皿接种沉积技术可用于表面接种。如果典型污染范围未知，则可能需要十进制稀释。要估算较小数量，按照 ISO 7218 中的描述，将 1 mL 初级稀释液涂抹在 3 个制备测试片的表面上。

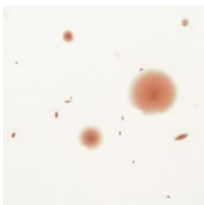
倾倒测试片接种

1. 将 1 mL 样品 (如果是液体) 或 1 mL 悬浮液 (如果是其他产品) 或任意序列稀释液转移到一个空的无菌陪替氏培养皿中。
2. 将大约 15-20 mL 熔融的 OP-TVC 倒入测试片中。旋转摇匀，然后在凉爽的表面上凝固。

注: 叠加并非必需，但可以有助防止在琼脂表面的生长蔓延。在这种情况下，在凝固琼脂上加入 4-6 mL 熔融琼脂，并使其凝固之后再接种，如 ISO 7218 中所述。

培育

将准备好的测试片倒置并在 30±1°C 下培育 36-48 小时。



解读

微生物生长将在清晰的背景下呈现为红色/粉红色菌落。一些微生物可能表现为弱反应或无反应，但无论颜色如何，所有菌落形成单位都应解释为活生物体。

计数菌落形成单位

计数所有菌落，无论颜色如何，并小心避免将基质碎片颗粒误认为菌落。仔细检查可疑物体，必要时，使用更高的放大倍率。选择含有 10–300 个菌落的测试片，完成准确计数。当结果超出限额时，请参阅 ISO 7218。应用稀释因子，无需连续两次稀释或重复稀释。

表示总活菌计数不需要确认。

稀释至规格结果

根据规格进行稀释，并将适当稀释的计算量添加到测试片中。

规格稀释示例：

稀释	接种	规格
1/10	1 mL 倾倒测试片	阴性结果 <10 CFU/mL 阳性结果 ≥ 10 CFU/mL
1/10	0.1 mL 表面或倾倒测试片	阴性结果 <100 CFU/mL 阳性结果 ≥ 100 CFU/mL
1/10	0.01 mL 表面 (环) 条纹测试片	阴性结果 <1000 CFU/mL 阳性结果 ≥ 1000 CFU/mL
1/100	1 mL 倾倒测试片	阴性结果 <100 CFU/mL 阳性结果 ≥ 100 CFU/mL
1/100	0.1 mL 表面或倾倒测试片	阴性结果 <1000 CFU/mL 阳性结果 ≥ 1000 CFU/mL
1/1000	1 mL 倾倒测试片	阴性结果 <1000 CFU/mL 阳性结果 ≥ 1000 CFU/mL

质量管理

脱水培养基的表象：米色、均匀、自由流动的粉末

制备的培养基的外观 (添加了补充剂之后)：米黄色 (Beige: 淡黄色至浅褐色，介于白色和黄色之间)，澄清或微浑浊

在 30 ± 1°C 有氧培育并在 48 小时检查生长时的典型培养反应：

微生物	WDCM	大约接种物 (CFU)	预计结果
枯草杆菌亚种 <i>spizizenii</i>	00003	50-200	>70 % 恢复率, 红色/粉红色
大肠杆菌	00013	50-200	>70 % 恢复率, 红色/粉红色
大肠杆菌	00012	50-200	>70 % 恢复率, 红色/粉红色
金黄色葡萄球菌	00034	50-200	>70 % 恢复率, 红色/粉红色

该方法的注意事项和局限性

1. 根据 ISO 7218, 运用良好的微生物学实验室规范, 但强制性重复计数除外, 因为 One Plate 方法只需要一个陪替氏培养皿。
2. 一些菌株可能会因为诊断补充剂而产生微弱反应或缺乏反应。由于所有菌落均视为靶标, 并且补充剂旨在提高计数能力, 因此无论颜色如何, 都应对所有菌落计数。
3. 叠加并非强制性, 但可以帮助防止表面扩散。
4. 每张测试片的菌落计数超过 300 CFU 会导致难以确定诊断反应; 建议使用较高的稀释度, 以便准确计算较高的污染水平。
5. 检测限值和定量限值均由传代培养体积决定。
6. 接种稀释度为 1/10 的 1.0 mL (倾倒测试片), 检测限值为 10 CFU/g, 用户可以量化 (枚举) > 100 CFU/g。
7. 如果测试片计数导致计数的菌落少于 10 个, 则应表示估计数, 例如, 报告 >10 CFU/g 或 >100 CFU/g (取决于接种体积)。

验证

应按照 ISO 16140:3:2021 中描述的协议, 开展方法验证。用户实验室应遵循第 5 章“定量方法——验证技术协议”中所述的实验设计和验收标准。

确认

MicroVal (ISO 16140-2:2016)

One Plate TVC 已通过 MicroVal 认证, 可用于替代参考 ISO 4833-1:2013 微生物计数水平方法—第 1 部分: 根据参考标准 ISO 16140-2:2016, 通过浇注测试片技术在 30°C 下计数菌落, 其范围是各种食品中微生物的计数。有关详细信息, 请参阅 MicroVal 证书。

安全性

请参阅相关产品安全数据表 (SDS)。

存储

在 2-30°C 储存脱水培养基, 避免阳光直射。打开并重新盖上盖子后, 以相同储存温度, 将容器放置在低湿度环境中。保持容器密闭, 防止潮湿和光线照射。

制备的培养基和/或补充剂应储存在 2-8°C。请勿冷冻贮藏。补充剂可在室温下储存长达 5 天。

到期

请参阅容器上印有的有效期。如果脱水培养基并非自由流动, 或者外观与原始颜色相比有所改变, 则应丢弃。有效期适用于完整容器中的培养基。

处置

培养物应当作为生物危害废物适当处理。处理生物危害废物的首选方法是高压灭菌。不能高压灭菌的物品可以用漂白剂溶液消毒。有关详细说明, 请咨询您设施的安全顾问。

客户服务

可以使用以下联系信息,联系 Neogen 客户服务和技术服务:

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Scotland UK
+44 (0) 1292 525600

infoUK@neogen.com

提供有关本品及所有 Neogen 测试套件的培训。

条款和条件

如需完整条款和条件,请访问 <https://www.neogen.com/terms-and-conditions>

质保

Neogen Corporation 不作明示或暗示的保证,但其产品材料为标准质量除外。如有材料存在缺陷,Neogen 将提供产品更换。买方承担因使用本产品而产生的所有风险和责任。我们不保证本产品的适销性或产品适用于任意目的。若因使用本产品而直接或间接产生损害,包括特殊损害或后果性损害,或费用,Neogen 概不负责。



제품 지침

One Plate 총 생균수 (OP-TVC)

사용 목적

One Plate 총 생균수 (OP-TVC)는 기존 배양 방법을 사용하여 총 호기성 중온균을 신속하게 계수할 수 있는 방법입니다.

제품 요약 및 설명

총 생균수 (TVC)는 30°C에서 호기성 배양 시 고체 배지 위/안에서 성장하고 집락을 형성할 수 있는 미생물의 계수를 위한 테스트 방법입니다. 이 테스트는 광범위한 식품의 미생물 바이오버든을 측정하는 데 사용됩니다.

One Plate 총 생균수 t는 모든 종속영양 미생물의 성장을 지원하는 데 필요한 모든 필수 탄소, 질소 및 성장 인자를 제공하는 영양 한천 염기로 구성됩니다. 멸균 후 추가 진단 보충액을 추가하며, 목적은 대사 활동을 표현하는 집락 형성 단위를 표시하고 착색하는 것입니다. 이 착색을 통해 한천 위 또는 안에서 집락을 더 효과적으로 식별하고 계수할 수 있습니다.

이 제품은 ISO 7218, ISO 4833(두 부분 모두)의 설명에 따라 플레이트를 2개 이상 사용하는 대신 플레이트를 하나만 사용하여 모든 식품에서 36~48시간 내에 총 독자 생존 가능체 수의 정량 결과를 얻을 수 있습니다.

대상 사용자

이 방법은 자격을 갖추고 있으며 적절한 교육을 받은 직원이 사용하도록 설계되었습니다.

제품 코드

참고: 적합한 시료별 희석제에 대해서는 ISO 6887 1~5부를 참조하십시오.

제품 이름	형태	팩 크기	SKU	
One Plate TVC	DCM	500g	700006967	NCM1018A
		5kg	700006968	NCM1018B
		10kg	700006969	NCM1018C
		25kg	700006970	NCM1018D
One Plate TVC 진단 보충액	액상 즉시 사용 보충액	100mL 병 1개	700006971	NCM4094-200
One Plate TVC	준비된 한천 플레이트*	20 x 90mm 한천 플레이트	요청 시	
		100 x 90mm 한천 플레이트	요청 시	
One Plate TVC	다시 녹임 가능 한천**	250mL 병 1개	요청 시	

*준비된 한천 플레이트는 보충액이 필요하지 않습니다.

**다시 녹임 가능 한천은 길이 날 정도로 뜨거운 물이 담긴 수조에서 녹여야 합니다(자세한 지침은 ISO 7218 참조). 템퍼링 후 배지를 보충해야 합니다.

일반 구성

제형은 성능 사양을 충족하기 위해 필요에 따라 조정 및/또는 보충될 수 있습니다.

펩톤	8.5g/L
성장 혼합물	4.65g/L
한천	10.0g/L

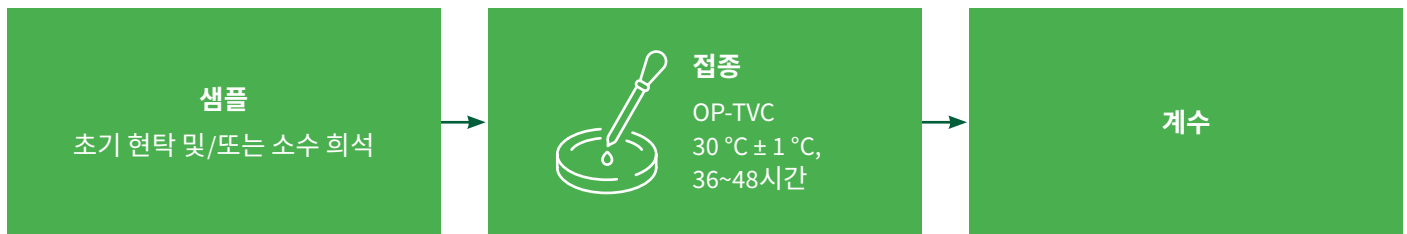
25°C 기준 준비된 배지의 pH: pH 6.3 ± 0.1.

준비

정제수 1리터에 배지 23.15g을 현탁시키십시오. 자주 교반하여 배지를 완전히 녹이십시오. 121°C에서 15분 동안 고압 멸균하십시오. 45~50°C로 식히십시오. One Plate TVC 진단 보충액(NCM4094-200) 0.5mL를 무균 상태로 추가하고 휘저어 혼합한 다음 페트리 접시에 부으십시오.

참고: One Plate TVC 진단 보충액은 성장 요건에 기여하지 않습니다. 보충액을 추가하지 않으면 집락이 자연적인 밀짚색/담황색으로 나타납니다.

OP-TVC 흐름도



시료 준비

ISO 6887의 사양 또는 초기 현탁 및 희석에 대해 해당 제품에 적합한 특정 국제 표준을 따르십시오.

표면 점종

1. 현탁액 또는 일련 희석액 0.1mL를 준비된 또는 사전 붓기 완료 OP-TVC 한천 플레이트 **1개**의 표면으로 옮기십시오.
2. 멸균 살포기를 사용하여 점종물을 표면에 퍼 바르십시오.

참고: 자동 나선형 플레이팅 증착 기법을 표면 점종에 사용할 수 있습니다. 일반적인 오염 범위를 알 수 없는 경우 소수 희석이 필요할 수 있습니다. 소량을 추정하려면 ISO 7218에 설명된 대로 1차 희석액 1mL를 준비된 플레이트 3개의 표면에 퍼 바르십시오.

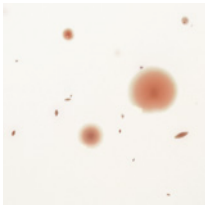
붓기식 플레이트 점종

1. 액체 시료 1mL, 기타 제품이나 일련 희석액의 경우 현탁액 1mL를 빈 멸균 페트리 접시 **1개**로 옮깁니다.
2. 약 15~20mL의 용융된 OP-TVC를 플레이트에 붓습니다. 휘저어 잘 균질화하고 서늘한 표면에서 응고시킵니다.

참고: 반드시 중첩할 필요는 없지만, 중첩하면 한천 표면의 성장 확산을 방지할 수 있습니다. 중첩하려는 경우 설정된 한천 위에 ISO 7218에 설명된 대로 4~6mL의 용융 한천을 추가하고 응고시킨 후 배양합니다.

배양

준비된 플레이트를 뒤집고 30 ± 1°C에서 36~48시간 동안 배양하십시오.



해석

미생물 성장은 투명한 배경에 빨간색/분홍색 집락으로 나타납니다. 일부 미생물은 반응이 약하거나 없을 수 있지만, 모든 균락 형성 단위는 색상에 관계없이 독자 생존 가능 생물로 해석되어야 합니다.

집락 형성 단위 계수

색상에 관계없이 모든 집락을 세고, 매트릭스 파편 입자를 집락으로 착각하지 않도록 주의하십시오. 필요한 경우 더 높은 배율을 사용하여 의심스러운 물체를 주의 깊게 검사하십시오.

정확한 계수를 위해 10~300개의 집락이 포함된 플레이트를 선택하십시오. 결과가 한계를 벗어난 경우 ISO 7218을 참조하십시오. 희석 계수를 적용하십시오. 이렇게 하면 2회 연속으로 희석하거나 중복할 필요가 없습니다.

총 독자 생존 가능체 수의 표현에는 확인이 필요하지 않습니다.

사양에 따른 희석 결과

사양에 따라 희석이 이루어지며, 계산된 양의 적절한 희석액이 플레이트에 추가됩니다.

사양 희석의 예:

희석	접종	사양
1/10	1mL 붓기식 플레이트	음성 결과 <10CFU/mL 양성 결과 ≥ 10CFU/mL
1/10	0.1mL 표면 또는 붓기식 플레이트	음성 결과 <100CFU/mL 양성 결과 ≥ 100CFU/mL
1/10	0.01mL 표면(루프) 선상도말 플레이트	음성 결과 <1000CFU/mL 양성 결과 ≥ 1000CFU/mL
1/100	1mL 붓기식 플레이트	음성 결과 <100CFU/mL 양성 결과 ≥ 100CFU/mL
1/100	0.1mL 표면 또는 붓기식 플레이트	음성 결과 <1000CFU/mL 양성 결과 ≥ 1000CFU/mL
1/1000	1mL 붓기식 플레이트	음성 결과 <1000CFU/mL 양성 결과 ≥ 1000CFU/mL

품질 관리

탈수된 배지의 외형: 베이지색, 균질한 형태, 자유롭게 흐르는 분말

준비된 배지의 외형(보충 추가 후): 베이지색, 맑은 색 부터 약간 탁한 색

30 ± 1°C에서 호기성으로 배양하고 48시간 후 성장을 검사했을 때의 일반 배양 반응:

미생물	WDCM	대략적인 접종물(CFU)	예상 결과
바실루스 서브틸리스 아종 스피지제니	00003	50-200	>70% 회수, 빨간색/분홍색
대장균	00013	50-200	>70% 회수, 빨간색/분홍색
대장균	00012	50-200	>70% 회수, 빨간색/분홍색
황색포도상구균	00034	50-200	>70% 회수, 빨간색/분홍색

방법의 주의 사항 및 한계

1. One Plate 방법에는 하나의 페트리 접시만 필요하므로, 계수를 위한 필수 중복 플레이팅을 제외하고 ISO 7218에 따라 우수한 미생물학 실험실 관행을 이용합니다.
2. 일부 균주는 진단 보충액에 반응이 약하거나 없을 수 있습니다. 모든 집락은 표적으로 간주되며 보충액은 계수 능력을 향상시키기 위한 것이므로, 색상에 관계없이 모든 집락을 계수해야 합니다.
3. 반드시 중첩할 필요는 없지만, 중첩하면 표면 확산을 방지할 수 있습니다.
4. 플레이트당 집락 수가 300CFU를 초과하면 진단 반응의 정위가 불량해질 수 있습니다. 더 높은 수준의 오염을 정확하게 계수하기 위해 농도가 더 높은 희석액을 사용하는 것이 좋습니다.
5. 검출 한계와 정량화의 한계는 모두 하위 배양 용량에 의해 결정됩니다.
6. 1/10 희석액 1.0mL(붓기식 플레이트) 접종의 검출 한계는 10CFU/g이며, 사용자는 > 100CFU/g 한계에서 정량화(열거)할 수 있습니다.
7. 플레이트의 계수 결과 집락 수가 10개 미만인 경우 추정 수를 표현해야 합니다(예: >10CFU/g 또는 >100CFU/g으로 보고(접종 용량에 따라 다름)).

검증

방법 검증은 ISO 16140:3:2021에 설명된 프로토콜에 따라 수행해야 합니다. 사용자 실험실은 5장 '정량 방법 - 검증을 위한 기술 프로토콜'에 설명된 실험 설계 및 허용 기준을 따라야 합니다.

유효성 검사

MicroVal(ISO 16140-2:2016)

One Plate TVC는 미생물 계수를 위한 참조 ISO 4833-1:2013 수평적 방법(1부: 30°C에서 붓기식 플레이트 기법을 사용하는 집락 계수)의 대안으로 참조 표준 ISO 16140-2:2016에 따라 광범위한 식품에서 미생물 계수 범위로 MicroVal의 인증을 받았습니다. 자세한 내용은 MicroVal 인증서를 참조하십시오.

안전

관련 제품 안전 데이터 시트(SDS)를 참조하십시오.

보관

탈수된 배양 배지는 직사광선을 피해 2~30°C에서 보관하십시오. 용기를 개봉하고 뚜껑을 다시 덮은 후에는 동일한 보관 온도에서 습도가 낮은 환경에 용기를 두십시오. 용기를 단단히 닫아 습기와 빛으로부터 보호하십시오.

준비된 배지 및/또는 보충액은 2~8°C에서 보관해야 합니다. 얼리지 마십시오. 보충액은 실온에서 최대 5일 동안 보관할 수 있습니다.

만료

용기에 새겨져 있는 만료 날짜를 참조하십시오. 탈수된 배지는 자유롭게 흐르지 않거나 외형이 원래 색상에서 변경된 경우 폐기해야 합니다. 만료는 온전한 용기에 들어 있는 배지에 적용됩니다.

폐기

배양물은 생물학적 위험 폐기물로 적절하게 처리해야 합니다. 생물학적 위험 폐기물을 처리하는 데 선호되는 방법은 고압 멸균입니다. 고압 멸균할 수 없는 항목은 표백제로 소독할 수 있습니다. 자세한 지침은 해당 시설의 안전 자문에게 문의하십시오.

고객 서비스

다음 연락처 정보를 사용하여 Neogen 고객 서비스 및 기술 서비스에 문의할 수 있습니다.

The Dairy School, Auchincruive, Ayr, KA6 5HU, Scotland UK

+44 (0) 1292 525600

infoUK@neogen.com

이 제품 및 모든 Neogen 테스트 키트에 대한 교육이 가능합니다.

약관

약관 전문은 <https://www.neogen.com/terms-and-conditions> 참조

보증

Neogen Corporation은 제품을 제작하는 재료가 표준 품질이라는 점을 제외하고는 명시적이든 묵시적이든 어떠한 종류의 보증도 하지 않습니다. 재료에 결함이 있는 경우 Neogen은 제품 교체품을 제공합니다. 이 제품의 사용으로 인해 발생하는 모든 위험과 책임은 구매자의 몫입니다. 이 제품의 상품성 또는 어떤 목적으로든 제품의 적합성에 대한 보증은 없습니다. Neogen은 이 제품의 사용으로 인해 직간접적으로 발생하는 특수하거나 결과적인 손해 또는 비용을 포함한 어떠한 손해에 대해서도 책임을 지지 않습니다.

